Istituto di Anatomia Patologica della R. Università di Pisa
diretto dal *Prof.* A. MAFFUCCI

RICERCHE SPERIMENTALI

SUL

POTERE TOSSICO DEL LATTE

DI ANIMALI TUBERCOLOTICI

PER IL

Dott. PASQUALE DE MICHELE
Coadiutore

Estratto dal periodico mensile **La Pediatria**, fasc. 8 — 1894

NAPOLI
Stabilimento Tipografico Cav. A. Tocco
S. Pietro a Maiella, 31
1894.

Istituto di Anatomia Patologica della R. Università di Pisa
diretto dal *Prof.* A. MAFFUCCI

Ricerche sperimentali sul potere tossico del latte di animali tubercolotici

per il

Dr. PASQUALE DE MICHELE

Coadiutore

L'importanza del latte e dei suoi derivati come sostanze alimentari molto in uso e come agenti terapeutici in parecchi stati morbosi, ha determinato molti ricercatori a studiare in quali condizioni essi perdono qualcuna delle loro migliori qualità e diventino o poco atti ad una buona nutrizione, o sorgenti alla lor volta di nuova malattia. Così, mentre le ricerche chimiche si propongono di scoprire quelle sostanze estranee organiche od inorganiche, che accidentalmente o a scopo di adulterazione possono trovarsi nel latte, burro, crema, ecc.; le batteriologiche invece tendono a constatare se esistono in questi prodotti dei microrganismi patogeni, quali sono le vie per cui possono pervenirvi e quale l'influenza che possono esercitare sulle condizioni generali degl'individui, ai quali vengono somministrati coi suddetti alimenti.

I ricercatori, che si sono occupati del potere infettivo del latte inquinato, potrebbero a rigore esser divisi in due gruppi, secondo il metodo che hanno tenuto nelle loro indagini.

Alcuni si sono limitati ad esaminare una quantità più o meno grande di latte del commercio, ovvero ad inquinare prima artificialmente del latte buono, per indagar poi in via sperimentale, fino a qual grado ed epoca conservasse il potere virulento conferitogli; altri, seguendo una via differente, hanno rivolta la loro attenzione al latte proveniente da donne o animali ammalati di un'infezione generale o localizzata, per ricercare se gli agenti patogeni sono capaci di passare attraverso la glandola mammaria sana od ammalata.

Il WESENER (1), tra i primi, somministrando a cavie o conigli, per mezzo di una sonda gastrica, del latte mescolato a sputo di

(1) WESENER — Kritische und experimentelle Beiträge zur Lehre von der Fütterungstuberkulose — *Freiburger Academische habililationschrift* — Freiburg B. 1885.

tisici fresco, disseccato o putrefatto, ottenne in parecchi casi tubercolosi delle glandole mesenteriche o dell' intestino.

Il Galtier (1) seguì la stessa via: con latte di vacca sana cui aveva mescolato il prodotto di tessuti tubercolotici, fece, secondo i metodi ordinari, della crema e ricotta, che iniettò a cavie e conigli i quali divennero tubercolotici.

Il Gasperini (2) ripetè l' esperimento mescolando al latte delle colture di tubercolosi o del pus di ascessi caseosi, e del latte così inquinato fabbricò crema e burro. Le inoculazioni di queste sostanze sulle cavie, dimostrarono che il bacillo può conservare la sua virulenza fino a 120 giorni dopo la preparazione e per una durata ancora maggiore se il latte è tenuto in buone condizioni.

A risultati poco differenti giunse il Laser (3), il quale trovò che il latte inquinato con bacilli del tifo, colera e tubercolosi, era capace di trasmettere l' infezione anche dopo una settimana.

Il Brusaferro (4) invece, avendo inoculato 22 porcellini d'india con 9 campioni di burro del commercio, ottenne in 2 casi soltanto una forma di tubercolosi zoogleica, la cui origine egli fa rimontare al momento della fabbricazione, più che agli animali da cui proveniva il latte.

Più numerosi sono gli autori che si sono occupati del passaggio dei virus organizzati attraverso la glandola mammaria,

Il Gerlach (5) aveva notato da lungo tempo la infettività del latte proveniente da vacche tubercolotiche, ed il Bollinger (6) la trasmissione del carbonchio per mezzo del latte di animali carbon-

---

(1) Galtier — Dangers de l' utilisation des produits, tel que le petit lait e le fromage obtenus avec te lait de vaches tuberculeuses— Note présenté par Chauveau—(*Compt rend.*, Tom. CV 1887. Pag. 1333).

(2) Gasperini —Il burro naturale come mezzo di trasmissione della tubercolosi — *Giornale della R. Società d'Igiene* — 1890.

(3) Laser — Ueber das Verhalten von Typhusbacillen, Cholehrabacterien und Tuberkelbacillen in der Bruttre — *Zeitschrift für Hygiene*. Bd. X, 1891. S. 513.

(4) Brusaferro — Alcune esperienze d' inoculazione col burro del commercio — *Giornal. di Med. Veter. Prat.* — Torino 1891. Fasc. 2, 3. Pag. 201.

(5) Gerlach — *Iahresbericht der Königl. Thierarzneischule zu Hannover*. Zweiter Bericht für das Iahr 1869.

(6) Bollinger — Ziemssen' s *Handbuch der Speciellen Pathologie und Therapie* — Bd. III. S. 501.

chiosi. Anche Günther ed Harms (1), Klebs (2) Feser (3) riprodussero il carbonchio con latte di pecore carbonchiose, e il Petersen (4) partendo dal principio che il latte costituisce un ottimo sostrato nutritivo per molti microrganismi patogeni, trovò che non solo può trasmettere le infezioni immediatamente, ma anche qualche tempo dopo l' estrazione dall' animale. Semmer (5), Peuch e Toussaint (6), May (7) somministrando per la bocca o per iniezioni il latte di vacche tubercolotiche, riprodussero questa malattia nelle cavie su cui avevano sperimentato. Nello stesso tempo il Conheim (8) ed il Grawitz (9) notavano sperimentalmente nel latte e nelle orine di animali inoculati il passaggio di microrganismi patogeni, e Flügge e Wyssokowitsch (10) venivano alle medesime conclusioni per la saliva, urine, latte, sudore, ecc., notando però che, finchè gli epitelii degli organi secernenti erano integri, la eliminazione dei virus morfologici non era possibile.

Manotzkow (11) non riuscì a constatare mai nel latte di animali infettati preventivamente i microrganismi che aveva inoculati.

Bang (12) rinvenne i bacilli della tubercolosi nel latte di vacche ammalate, quando anche la glandola mammaria era lesa; eccetto due casi soltanto in cui il reperto fu positivo anche a mamella integra.

Koubassoff (13) iniettò a delle cavie gravide, colture di tubercolosi,

---

(1) Günther und Harms — *Jahresbericht der Konigl. Thierarzneischule zuHannover.* Bericht für die Iahre 878-71-73.

(2) Klebs — *Ebenda.* S. 163.

(3) Feser—Ueber die Milch milzbrandkranker Thiere. Virchow-Hirsch's *Iahresberichte,* 1879.

(4) Petersen — Ueber die verbreitung austeckender Krankeiten durch Milchgenuss und die dagesen zu ersreifenden Sanitätspolizeilichen Maussregeln — *Thiermed. Vorträge.* Leipzig. S. 552.

(5) Semmer — Virchow's - *Archiv.* Bd. LXXXII S. 546.

(6) Peuch et Toussaint — *Archiv. Vétér.* 1880.

(7) May — *Archiv für Hygiene.* Bd. I.

(8) Conheim — *Vorlesungem ueber Allgemeine Pathologie.* 1880 Bd. II. S. 297.

(9) Grawitz — Virchow's - *Archiv.* Bd. LXX. S. 546.

(10) Wyssokowitsch — *Zeitschrift für Hygiene.* Bd. 1.

(11) Manotzkow — *Inaugural- Dissertation.* Petersburg. 1881.

(12) Bang — *Deuts. Zeitschrift f. Thiermed, u. verglichen d. Pathologie.* 1884. Bd. XI.

(13) Koubassoff — Passage des mirobes pathog. de la mère au foetus — *Compt. rend. de l'Academie des Sciences* — Tom. CI, 1885. N. 6.

mal di rosso ed edema sotto la cute, e trovò nel latte della madre e negli organi interni del feto i bacilli rispettivi.

ESCHERICH (1) potè coltivare dal latte di puerpere diverse specie di cocchi e ritiene che vi fossero pervenuti per mezzo del sangue. Anche il BUMM (2) ebbe un reperto identico: ma la mammella in questo caso era affetta da mastoite, cui l'A. attribuì la presenza di piogeni.

FOÀ e BORDONI-UFFREDUZZI (3) inoculando delle coniglie sgravate da poco tempo con diplococco di FRAENKEL, poterono constatare che il microrganismo passava nel latte.

PEUCH (4) trattando dei conigli con iniezioni intraperitoneali di latte proveniente da vacche tubercolotiche, ottenne spesso riproduzione della malattia: un coniglio morì dopo 24 giorni fortemente dimagrito.

I tentativi fatti dal CAVAGNIS (5) invece, per riprodurre la tubercolosi con latte di cavie tubercolotiche, furono negativi: anche le piccole cavie allattate da madri tubercolotiche non contrassero infezione.

NOCARD, ROUX e BOURDACH (6) e ZAGARI (7), nelle loro esperienze sulla trasmissibilità della rabbia, vennero alla conclusione che il virus rabbico era capace di passare dalla madre al figlio per la placenta e per il latte. CELLI e DE BLASI (8) ebbero invece risultati differenti.

---

(1) ESCHERICH — *Fortschritte der Medicin.* 1885. Bd. III. S. 231.

(2) BUMM — *Archiv für Gynäkologie.* 1886. Bd. XXVII.

(3) FOÀ e BORDONI-UFFREDUZZI — Sulla etiologia della meningite cerebro - spinale epidemica — *Archivio per le scienze mediche.* 1887 pag. 409.

(4) PEUCH—Note sur la contagion de la tuberculose par le lait non bouilli et la viande crue. Nouvelles expériences sur le porc e le lapin. *Revue Vétérin.* 1888. Pag. 649 a 653.

(5) CAVAGNIS — L'attamento per parte di animali tubercolotici: il latte, il sangue, la bile di animali tubercolotici — *Atti del R. Istituto Veneto di lettere, scienze ed arti.* 1888, Tom. VII, Sez. 6°.

(6) NOCARD, ROUX et BOURDACH — Der Uebergang. des Wuthviny in die Milch. *Recueil de Med. Vétér.* 1889.

(7) ZAGARI — Esperimenti intorno alla trasmissione della rabbia dalla madre al feto attraverso la placenta e per mezzo del latte. *Giornale Internazionale delle scienze mediche.* 1888. Anno X.

(8) CELLI e DE BLASI—Stazione di vaccinazione antirabbica. Relazione del suo primo anno di vita. 1887-88. Sep. A. Palermo 1888.

Hirschberger (1) mediante esperimenti con latte di animali ammalati di tubercolosi generalizzata o localizzata nella mammella, o, più raramente, in altri organi, ottenne in 55 0|0 dei casi tubercolosi miliare nelle cavie alle quali aveva iniettato il latte. L' A. ha determinato approssimativamente la quantità di bacilli necessaria per produrre l'infezione nell'uomo, quando però i succhi gastrici siano insufficienti per qualità o quantità ad annullare i bacilli stessi.

Schmidt-Mülheim (2) venne a conclusioni perfettamente opposte a quelle dell'A. precedente; perchè avendo iniettato nel cavo peritoneale di conigli del latte di vacche tubercolotiche, non ebbe mai riproduzione della malattia. Würzburg (3) ritenne che il passaggio di germi patogeni nel latte è possibile, ma non ancora dimostrato, giacchè i suddetti germi possono pervenirvi per inquinamento accidentale.

Pernice e Scagliosi (4) infine producendo delle infezioni sperimentali in animali, ebbero col latte di questi talvolta riproduzione della forma morbosa, talvolta no.

Tutti i ricercatori poi sono stati concordi nel dichiarare che ogni latte di provenienza sospetta debba essere sottoposto all'ebollizione, prima di essere adoperato come alimento.

E fin qui non si è trattato che della possibile diffusione di morbi infettivi per mezzo del latte inquinato o alla sua origine nell'organismo animale o, per mancanza di norme igieniche, dopo l'estrazione.

Ma gli studi ulteriori sui prodotti tossici del ricambio materiale dei batteri, e le cognizioni possedute da lungo tempo sulla eliminazione di molti farmachi attraverso gli organi secernenti, dovevano naturalmente dare un indirizzo nuovo a ricerche di simil genere.

È noto come parecchie sostanze chimiche del regno vegetale o minerale (mercurio, bromo, jodio, chinina, ecc.), penetrate nel

---

(1) Hirschberger—Hexperimentelle Beiträge zur Infectiosität der Milch tuberkulöser Kühe. *Deuts. Archiv. für Klinis. medici.* Bd. XLIV. 1889. S. 500.

(2) Schmidt-Mulheim—Ueber die gefahren der tuberkulösen milch und die tenacität der sogen rubukelsporen. Archiv. f. Animal. Nahlmigsmittelkunde. 1890. Bd. V, N. 9.

(3) Würzburg — Ueber Infectionen durch Milch. *Therapeutische Monatschefte.* 1891. S. 18.

(4) Pernice e Scagliosi — *Deutsche Medicinische Wochenschrift* 1892, Num. 34.

circolo per una via qualsiasi, vengano eliminate con le secrezioni fisiologiche o conservando le loro proprietà chimiche, o perdendole in parte. Questo fatto doveva richiamare l'attenzione degli studiosi sulla possibilità che le toxine ancora fossero capaci di passare nelle secrezioni normali e quindi anche nel latte.

I primi tentativi sperimentati in questo senso furono fatti dal Bouchard (1), il quale trovò che le orine di animali, inoculati prima con piocianico, non solo non riproducevano la malattia negli animali ai quali venivano iniettate, ma li rendevano immuni da un'infezione ulteriore della stessa natura. Poco dopo Charrin e Ruffer (2) ripetevano gli esperimenti con lo stesso microrganismo e con risultati identici; ed il Würzburg (3) emetteva l' opinione che il latte, proniente da animali ammalati, dovesse evitarsi come velenoso.

Brieger ed Ehrlich (4) hanno ripetuto ultimamente col tetano gli esperimenti fatti dal Bouchard col piocianico: dopo di avere immunizzato una capra contro il tetano. mediante iniezioni preventive; col latte di essa, preso a differenti periodi ed inoculato a dei topi, resero questi animali refrattari a colture virulente, le quali inoculate ad altri topi di controllo, determinavano le contrazioni caratteristiche. Il Maffucci (5) infine, avendo iniettato delle colture morte di tubercolosi a cavie gravide, notò che queste o abortivano o — se menavano a termine la loro gravidanza — avevano figli cachettici con le note generali dell'abito tisico; onde venne alla conclusione che la tossina della tubercolosi passa anche attraverso la placenta, senza perdere alcuna delle sue proprietà.

Evidentemente dunque, come il passaggio dei virus organizzati nella secrezione fisiologica a mammella integra non è stata sempre constatato e resta una quistione ancora controversa; la eliminazione dei prodotti tossici, almeno nelle poche ricerche, finora istituite, è stata constantemente esservata.

---

(1) Bouchard—Sur l'élimination par les urins dans les maladies infectieuses des matières solubles, mortifiques et vaccinantes. *Compt. rend. de l'Academie des Sciences de Paris.* Tom. 106, 1882-84.

(2) Charrin et Ruffer — *Compt. rend. de la Soc. de biologie.* Paris, 1880.

(3) Würzburg — *Verhaud, der Gesellschaft. deut. naturf. u. Aerzte.* 63. Versal. zu Bremen. 15 e 20 Sept. 1090. S. 439.

(4) Brieger und Ehrlich — Ueber die Uebertrasmis. von Immunität durch Milch. *Deut. Med. Wochenschrift.* 1892, N. 18.

(5) Maffucci — Sull'azione tossica dei prodotti del bacillo della tubercolosi. *Archiv. ed Atti della Soc. Ital. di Chirurgia.* Anno VIII, Pag. 402.

Dalle ricerche del prof. Maffucci (1) risulta inoltre che le cavie alimentate con colture di tubercolosi od organi di tisici, anche sottoposti alla temperatura di 100°, muoiono di marasma in un periodo vario dai 10 giorni ad un mese, sicchè tutti questi fatti mi hanno determinato a ricercare sperimentalmente:

1.° se il bacillo della tubercolosi passi nel latte di animali con infezione generalizzata;

2.° se vi passino ancora i prodotti tossici;

3.° se nella eliminazione questi perdano o pur no qualcuna delle loro proprietà e quali effetti producano sull'organismo animale.

Ho preferito la tubercolosi ad altre infezioni, prima perchè questa è una malattia molto diffusa tra le vacche, le quali rappresentano sempre la sorgente più forte del latte del commercio; poi perchè mi premeva notare, in un' infezione tanto generalizzata nell' uomo, quale influenza eserciti sulle condizioni nutritive dei figli il latte di madre tisica.

Mi son servito di 9 coniglie ed una cagna, iniettando nella giugulare, da uno a 4 giorni dopo il parto, una dose più o meno forte di tubercolosi dei mammiferi, la cui virulenza era accertata ogni volta su cavie di controllo. Nelle coniglie ho scelta la via venosa per avere rapidamente una forma di tubercolosi generale; ma nella cagna sono stato costretto a servirmi dell'iniezione diretta nel circolo, perchè — com'è noto per gli studi del prof. Maffucci (2) — è questa l' unica via per la quale il cane può contrarre la tubercolosi iniettata in dosi generose.

Nella cagna infatti la dose impiegata è stata di 3 c. c. di emulsione di una coltura molto virulenta in brodo sterile; laddove nelle coniglie le dosi iniettate son variate da 1|5 di c. c. ad 1 c. c. di emulsione fatta nello stesso modo.

Qualunque sia stata la dose però, i piccoli conigli son divenuti marantici sin dai primi giorni del succhiamento, e di marasma profondo sono morti, in periodi più o meno lontani dall'epoca dell'iniezione nella madre, secondo che la dose iniettata in questa è stata più o meno leggiera. Fanno eccezione i due cagnolini, i quali, malgrado la dose forte iniettata alla madre e il lungo periodo di

---

(1) Maffucci — *Loc. cit.*
(2) Maffucci — Die Hühner tuberkulose. *Zeitschrift für Hygiene.* 1892, III fasc. pag. 465.

succhiamento (50 giorni), hanno attualmente 2 mesi e 1[2 di età e sono abbastanza forti, sebbene un po' dimagriti.

Alla sezione dei coniglini morti il tubo digerente e le glandole mesenteriche e retroperitoneali non si son trovati mai alterati; gli altri organi erano atrofici. All'esame istologico poi ho trovato quasi sempre nei reni fatti di degenerazione o necrosi degli epitelii: qualche volta anche i caratteri di una vera nefrite parenchimale; nel fegato atrofia degli elementi epatici; nella milza aumento del pigmento ematico; nel polmone o semplice stasi, o piccoli focolai di pneumonite catarrale. Non ho mai visto lesioni tubercolari.

Il latte spremuto dalle mammelle delle coniglie e della cagna a differenti periodi dall'iniezione, da poche gocce (coniglia), ad 1 c. c. (cagna), o che sia stato esaminato semplicemente al microscopio coi metodi specifici, o che sia stato trapiantato in tubi di siero, nella camera anteriore dell'occhio di conigli sani, o nel cellulare sottocutaneo di cavie, non ha fatto scovrir mai il bacillo di Koch; e si noti che col solo latte della cagna si sono inoculati, in diversi periodi, 17 cavie, ognuna delle quali ha ricevuto da 1[2 a 1 c. c. di latte diluito in brodo o acqua sterile.

Tutte le cavie son morte di marasma ed il grado di questo, come l'epoca della morte erano subordinati alla quantità di latte iniettato: ad una maggiore dose rispondeva un più grave marasma ed una morte più rapida. (1) Nè ciò potrebbe attribuirsi al latte fisiologico, perchè, prima dell'iniezione nella giugulare, il latte della cagna stessa, iniettato sotto la cute di 2 cavie, non ha determinato in queste alcun disturbo.

Una della coniglie, la quale aveva ricevuta la dose di 1[2 c.c. nella giugulare, ebbe 9 figli: di questi, due, al 25° giorno della nascita, quando già mangiavano da sè, furono divisi dalla madre; ma ciò nonostante non giunsero mai a rimettersi in buone condizioni nutritive e morirono di marasma, come i loro fratelli che avevan continuato a succhiare.

---

(1) Da 2 donne degenti all'ospedale con tubercolosi polmonare in uno stadio avanzato, mi è stato possibile raccogliere 3 c. c. di latte da una, uno e mezzo dall'altra: 2 cavie inoculate col latte della prima sono morte dopo 17 e 29 giorni, con grave marasma; una cavia cui si era iniettato il latte dell' altra, è morta come le compagne dopo 15 giorni. Nessuna delle 3 presentava lesioni tubercolari. La diagnosi clinica nelle 2 donne era stata avvalorata dall' esame dell' espettorato, nel quale avevo potuto vedere una grande quantità di bacilli.

Tutte le coniglie, dopo morte, presentavano tubercolosi degli organi; ma le glandole mammarie furono trovate sempre normali, anche con l'esame istologico. Nella cagna il reperto anatomico, due mesi dopo l'iniezione, diede per risultato tubercolosi del fegato e della milza.

I risultati delle mie ricerche si compendiano in due fatti verificatisi costantemente e che dànno luogo ad alcune considerazioni.

Prima di tutto bisogna notare che, tanto nelle coniglie, quanto nella cagna, la glandola mammaria si è trovata sempre integra e nel latte non è stato possibile rinvenire bacilli, sebbene la ricerca sia stata fatta talvolta poche ore dopo l'iniezione di dosi molto forti, quando cioè probabilmente i microrganismi erano ancora in circolo. Questo fatto risponde alle conclusioni di altri ricercatori come Flügge e Wyssokowitsch, i quali ritennero impossibile, a mammella integra, il passaggio dei virus organizzati, nel latte.

Altro fenomeno costantemente osservato nei miei esperimenti è stato la morte per marasma degli animali che hanno o succhiato il latte della madre tubercolotica (conigli), o ricevuto il latte stesso per iniezioni sottocutanee (cavie). Questa morte non può attribuirsi che alla presenza nel latte dei prodotti tossici del microrganismo; e però i miei risultati confermano quelli ottenuti dal Maffucci e dimostrano una volta di più come i succhi gastrici non siano capaci di annullare o modificare il potere tossico dei suddetti prodotti.

Le conseguenze che scaturiscono da queste osservazioni hanno il valore di un'applicazione pratica nel campo dell'igiene. Non è più da ricercare se un latte proveniente da animale tubercolotico contenga tal quantità di bacilli, che possa dare l'infezione: ammesso pure che essi siano in quantità minima e che vengano distrutti con l'ebollizione, restano le tossine, le quali, per azione di alte temperature o di succhi gastrici, non perdono le loro qualità eminentemente venefiche, anche in piccolissime dosi.

Lo smercio di latte proveniente da animali tubercolotici dovrebbe esser dunque vietato, come dovrebbe esser severamente inibito alle donne tisiche il dar latte ai figli proprii e degli altri.